



# БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

том 6 \* № 6 \* 1980

УДК 543.51:591.572.5

## ИЗУЧЕНИЕ СЛОЖНЫХ СМЕСЕЙ ПРИРОДНЫХ ВЕЩЕСТВ МЕТОДАМИ ДЕФОКУСИРОВКИ И DADI

I. РЕПЕЛЛЕНТЫ ЖУКА ЧЕРНОТЕЛКИ *BLAPS M.*

*Разаков Р. Р., Касимов А. Е., Асланов Х. А.,  
Садыков А. С.*

*Институт биоорганической химии Академии наук УзССР, Ташкент*

С помощью методов масс-спектрометрии в смеси репеллентов жука чернотелки *Blaps M.* идентифицированы  $\beta$ -ситостерин, стигмастерин, холестерин, 2-этилгидрохинон, 2-этил-1,4-бензохинон, *n*-метоксифенол, а для стерина состава  $C_{30}H_{50}O$  предложены вероятные структуры.

Репелленты, выделяемые насекомыми для защиты от врагов, представляют собой сложные смеси биологически активных веществ, среди которых идентифицированы фенолы [1], хиноны [2], алифатические кислоты [3], алкалоиды [4] и стероиды [5]. С практической точки зрения изучение репеллентов насекомых, которые могут быть использованы для борьбы с вредителями, представляет большой интерес.

Нами изучен состав смеси репеллентов жука чернотелки *Blaps M.* Этот жук — многоядный хищник, при приближении врага он упирается головой в землю, направляя кончик брюшка в сторону врага, и при этом выделяет смесь пахучих веществ. Запах этих веществ отпугивает грызунов, птиц, скорпионов и змей. В народной медицине этот жук в измельченном виде применяется как ранозаживляющее и антималярийное средство.

Масс-спектр высокого разрешения смеси репеллентов жука *Blaps M.* содержит большой набор пиков ионов (рис. 1). Установление методами прямого анализа дочерних ионов (DADI) и дефокусировки [6, 7] полной генетической связи между ионами показало наличие в масс-спектре смеси пиков молекулярных ионов для семи веществ (I—VII) с *m/e* 426 (I), 414 (II), 412 (III), 386 (IV), 138 (V), 136 (VI) и 124 (VII), имеющих независимый путь распада. Отсутствие предшественников для этих ионов доказали снятием их спектров дефокусировки. Точные значения *m/e* пиков и элементные составы молекулярных и ряда характеристических ионов для соединений (I—VII), определенные из масс-спектров высокого разрешения, приведены в таблице.

Анализ данных масс-спектров высокого разрешения и спектров DADI молекулярных ионов для соединений (I—IV) показал, что эта группа веществ относится к стеринам. Спектр DADI молекулярного иона соединения (IV) оказался идентичным соответствующему спектру холестерина (рис. 2). Аналогичным образом была доказана идентичность вещества (II) с  $\beta$ -ситостерином (рис. 3).

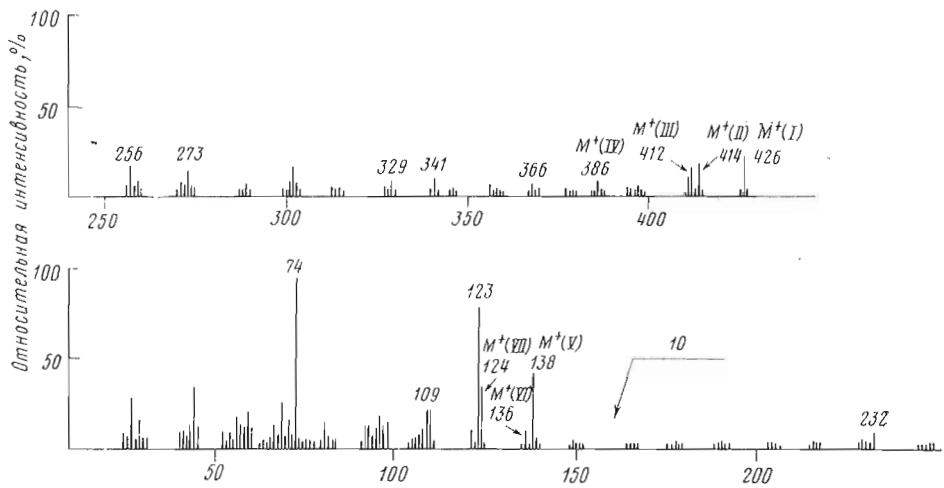
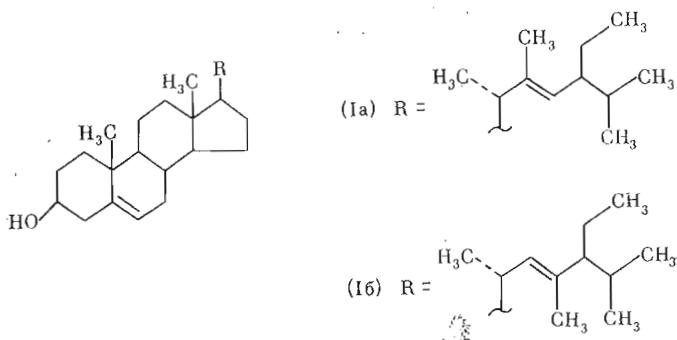


Рис. 1. Масс-спектр смеси репеллентов жука *Blaps M.*

Структурное сходство холестерила и  $\beta$ -ситостерина проявляется наличием в спектрах DADI их молекулярных ионов пиков дегидратационных ионов с  $m/e$  368 (IV), 396 (II), а также пиков ряда ионов с одинаковыми значениями  $m/e$  (232, 246, 273, 301). Разрыв связи  $C_{(23)}-C_{(24)}$  в молекулярных ионах соединений (II) и (IV) приводит к образованию иона с  $m/e$  329. Пик этого иона в спектре соединения (II) по сравнению с (IV) более интенсивен.

В спектре DADI молекулярного иона для соединения (I) (рис. 4) пик иона, отвечающего отщеплению метильной группы ( $m/e$  411), более интенсивен, чем пик дегидратационного иона ( $m/e$  408). В соответствующих спектрах для соединений (II) и (IV) наблюдается обратная картина. Другая особенность спектра DADI вещества (I) состоит в том, что наряду с наличием пиков ионов с  $m/e$  273, 246 и 232, присущих для спектров холестерила и  $\beta$ -ситостерина, имеются также пики ионов с  $m/e$  217 и 205, указывающие на более глубокий распад молекулярного иона, протекающий, возможно, с затрагиванием кольца C.

Разрыву связи  $C_{(23)}-C_{(24)}$  в спектре DADI молекулярного иона соединения (I) соответствует пик с  $m/e$  341, тогда как в спектре вещества (II) аналогичный ион имеет значение  $m/e$  329. Таким образом, разница в значениях пиков молекулярных ионов (I) и (II), составляющая 12 массовых единиц, начинает проявляться именно в значениях этих двух пиков. Эти данные свидетельствуют о том, что вещество (I) может отличаться от  $\beta$ -ситостерина строением боковой цепи. Поэтому для вещества (I) нами предположены две вероятные структуры — (Ia) или (Iб). Изучение строения вещества (I) продолжается.



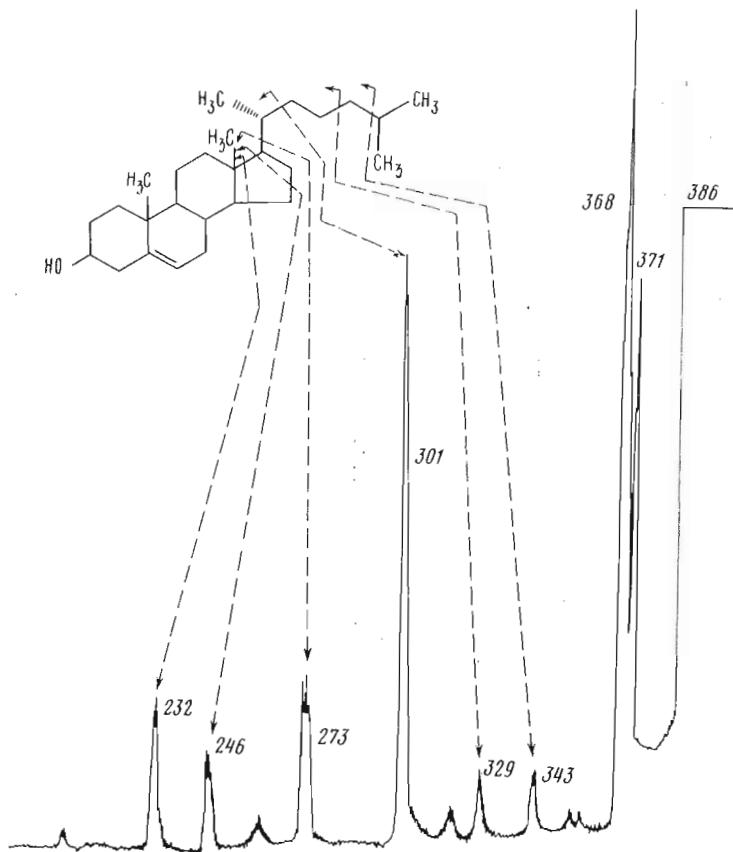


Рис. 2. Спектр DADI молекулярного иона холестерина (IV)

При сравнении спектров DADI веществ (I–IV), записанных в одинаковой интенсивности пиков молекулярных ионов, обнаружено, что в спектре соединения (III) пики  $(M-\text{CH}_3)^+$  с  $m/e$  397 и  $(M-18)^+$  с  $m/e$  394 почти в 2 раза более интенсивны, чем в других спектрах. Кроме того, спектр DADI молекулярного иона соединения (III) отличается от спектров веществ (I), (II) и (IV) содержанием большого числа малоинтенсивных пиков. Такая картина связана, возможно, с присутствием другого соединения, изомерного (III) и имеющего иное расположение одной из двойных связей. Группа пиков ионов с  $m/e$  369, 327, 301, 273, 246 и 232 свидетельствует о наличии в смеси стигмастерина (см. рис. 5).

Факт обнаружения стеринов (I–IV) в защитных секретах насекомого заслуживает внимания, тем более что организм насекомого сам не способен

#### Точные значения $m/e$ пиков ионов в масс-спектре смеси репеллентов

Найдено	Вычислено	Состав	Найдено	Вычис-лено	Состав
426,3853 ( $M^+$ ) (I)	426,3849	$\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$	273,2200	273,2211	$\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{O}$
414,3860 ( $M^+$ ) (II)	414,3849	$\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$	271,2035	271,2055	$\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{O}$
412,3694 ( $M^+$ ) (III)	412,3693	$\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$	246,1958	246,1977	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}$
411,3629	411,3615	$\text{C}_{29}\text{H}_{47}\text{O}$	232,1707	232,1699	$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{O}$
386,3531 ( $M^+$ ) (IV)	386,3537	$\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}$	138,0642 ( $M^+$ ) (V)	138,0624	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$
341,2850	341,2835	$\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{O}$	136,0474 ( $M^+$ ) (VI)	136,0468	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$
329,2853	329,2835	$\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{O}$	124,0481 ( $M^+$ ) (VII)	124,0468	$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2$
302,2626	302,2601	$\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}$	123,0398	123,0390	$\text{C}_7\text{H}_7\text{O}_2$
301,2550	301,2523	$\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{O}$			

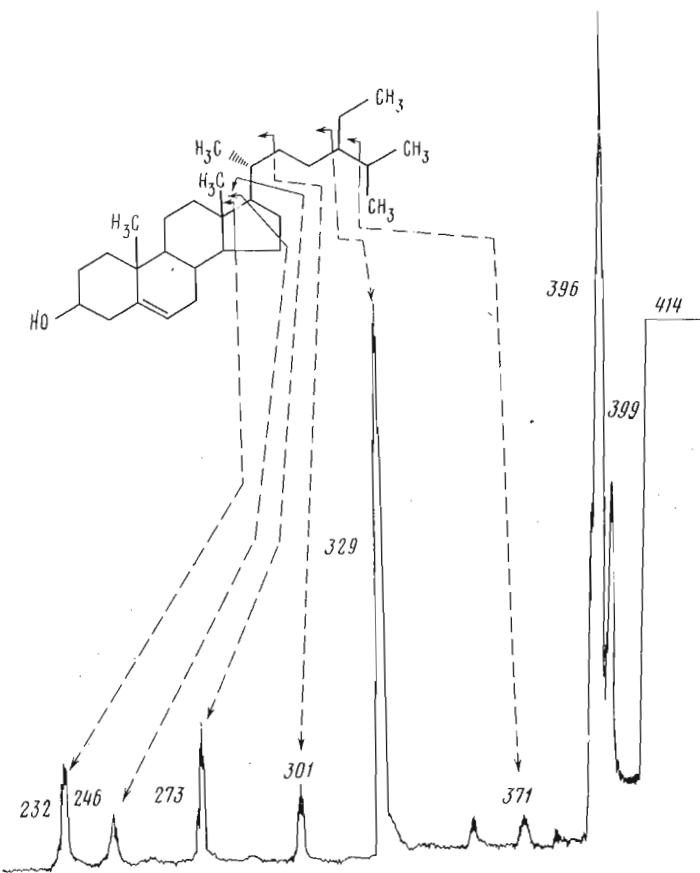


Рис. 3. Спектр DADI молекулярного иона  $\beta$ -ситостерина (II)

бен синтезировать стерины: он получает их из растения вместе с пищей и модифицирует в различные необходимые метаболиты, такие, как стероидные гормоны, эндокринные и др.

Отсутствие данных в литературе об обнаружении стеринов в защитных секретах насекомых, возможно, связано с методикой выделения, применяемой в настоящее время многими авторами, согласно которой обычно насекомых подвергают экстракции органическими растворителями. При дальнейшем разделении экстракта стерины отделяют вместе с липидной фракцией и далее обычно не анализируют. В нашей методике экстракция и разделение устранены и поэтому исключены как потеря ряда веществ, так и загрязнение секрета другими компонентами.

Для спектров DADI соединений (V–VII) характерно наличие пиков, отвечающих ионам  $(M-1)^+$  и  $(M-15)^+$  (см. рис. 6–8). Пик с *m/e* 109, присутствующий в спектре соединения (V), по данным высокого разрешения, соответствует ионам  $C_7H_9O$  и  $C_6H_5O_2$  с точными значениями *m/e* 109,05463 и 109,02351 соответственно. Это указывает на отщепление от молекулярного иона радикалов  $CHO^+$  и  $C_2H_5^+$ . С другой стороны, при добавлении  $C_2H_5O^2H$  к исследуемому образцу пик молекулярного иона для соединения (V) смещается на две массовые единицы в область высоких масс, что может быть обусловлено наличием в молекуле двух гидроксильных групп. Эти данные позволили предположить для соединения (V) структуру 2-этилгидрохинона.

В спектре DADI молекулярного иона соединения (VI) (рис. 7) интенсивность пика  $(M-15)^+$  по сравнению со спектром соединения (V) в 3 раза меньше, а уширенный пик с *m/e* 108, соответствующий выбросу

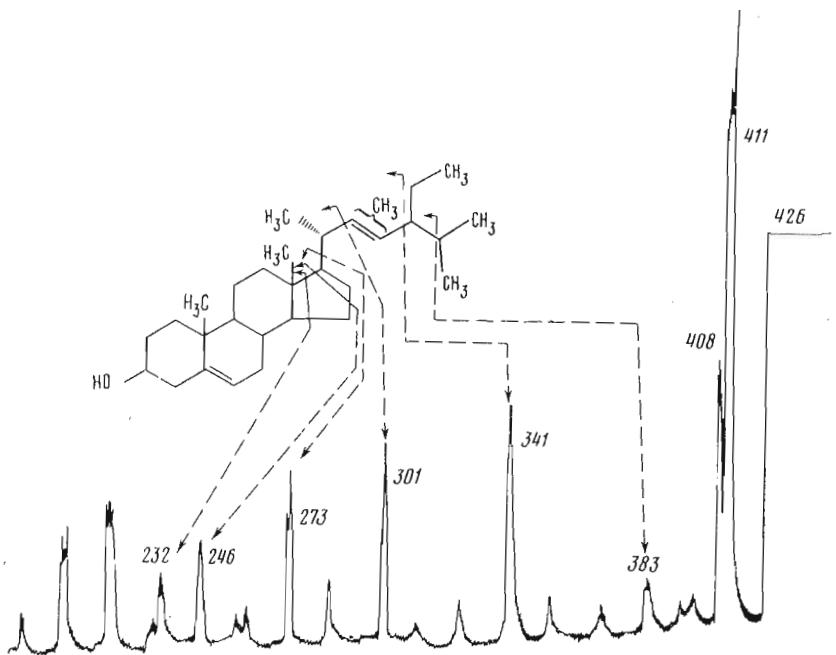


Рис. 4. Спектр DADl молекулярного иона соединения (I)

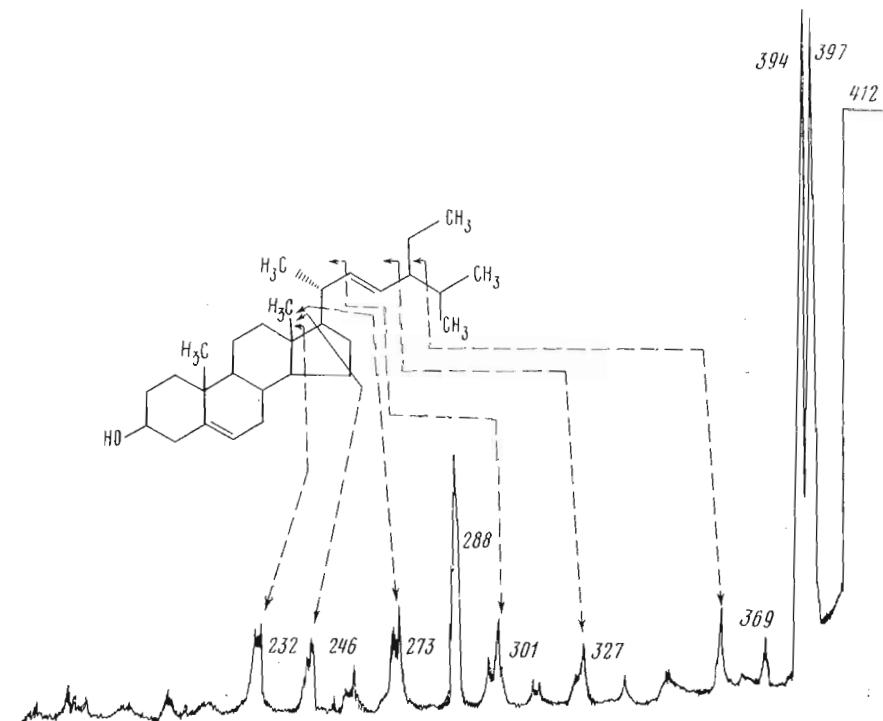


Рис. 5. Спектр DADl молекулярного иона стигмастерина (III)

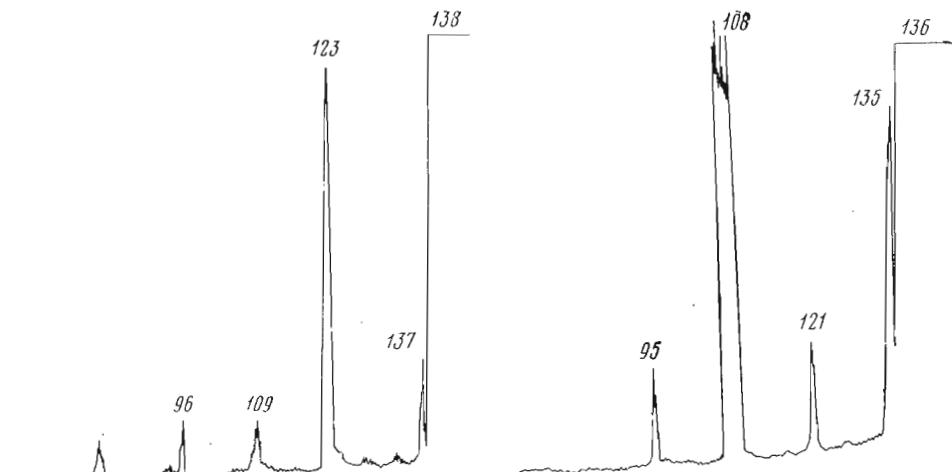


Рис. 6

Рис. 7

Рис. 6. Спектр DADI молекулярного иона 2-этилгидрохинона (V)

Рис. 7. Спектр DADI молекулярного иона 2-этап-1,4-бензохинона (VI)

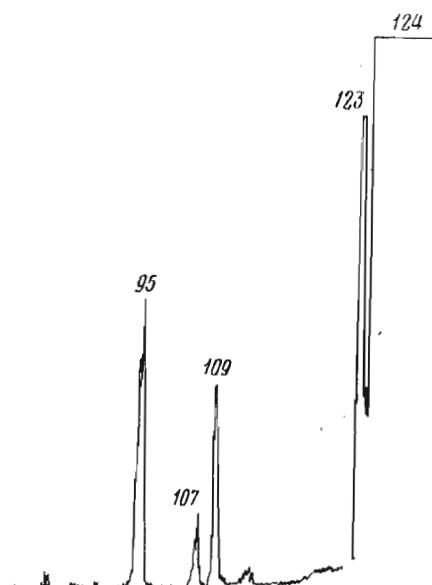
Рис. 8. Спектр DADI молекулярного иона *n*-метоксифенола (VII)

Рис. 8

группы CO, имеет высокую интенсивность. Такая картина спектра и отсутствие подвижных атомов водорода, способных обмениваться на дейтерий, дали основание предложить для соединения (VI) строение 2-этап-1,4-бензохинона. При обработке исследуемого образца спиртовым раствором KMnO<sub>4</sub> соединение (V) превращается в хинон (VI), что подтверждается соответствующими изменениями в масс-спектре (исчезновением пика с *m/e* 138 и пиков ионов его дальнейшего распада и заметным повышением интенсивности пика иона с *m/e* 136 и пиков его осколочных ионов).

Уместно вспомнить факт обнаружения гидрохинонов в защитном секрете жука-бомбардира [8]. В момент выброса секрета гидрохиноны, смешиваясь с перекисью водорода, выделяемой другой железой насекомого, окисляются в присутствии пероксидазы в соответствующие хиноны. Тепло, выделяемое при этой реакции, расходуется на образование паучьего ядовитого облачка. Наши данные служат еще одним свидетельством в пользу такого способа защиты, используемого и другими насекомыми.

Спектр DADI молекулярного иона соединения (VII) совпадает с соответствующим спектром синтетического *p*-метоксифенола (рис. 8). Спектры DADI молекулярных ионов *m*- и *o*-изомеров метоксифенола сильно отличаются друг от друга, а также от спектра вещества (VII).

Таким образом, использование метода DADI в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения позволило нам при минимальном количестве исследуемого объекта идентифицировать в сложной смеси репеллентов жука чернотелки *Blaps M.*  $\beta$ -ситостерин (II), стигмастерин (III), холестерин (IV), 2-этил-гидрохинон (V), 2-этил-1,4-бензохинон (VI), *p*-метоксифенол (VII) и предложить для стерина (I) вероятные структуры (Ia, б).

### Экспериментальная часть

Зашитные секреты жука *Blaps M.* отбирали в момент выбрызгивания с помощью тонкого стеклянного капилляра. Содержимое капилляра наносили в тигель со стеклянной ватой, после чего вводили в ионный источник прибора через систему прямого ввода образца.

Спектры получены на масс-спектрометре Varian MAT-311 с системой обработки данных MS-100 при энергии ионизирующих электронов 70 эВ, величине ускоряющего напряжения 3 кВ, температуре испарения образца 70–80° С, температуре ионизирующей камеры 120° С. В спектрах DADI массовое число дочерних ионов вычисляли по формуле

$$m_2 = m_1 \frac{E_1}{E_0},$$

где  $m_2$  — массовое число дочернего иона;  $m_1$  — массовое число иона-предшественника;  $E_1$  — напряжение на электростатическом анализаторе, при котором зарегистрировано  $m_2$ ;  $E_0$  — исходное напряжение на электростатическом анализаторе, при котором регистрируется  $m_1$ .

Величины  $E_0$ ,  $E_1$ ,  $V_0$ ,  $V_1$  измеряли цифровым вольтметром.

Спектры DADI снимали при интенсивности ионов  $m_1$  и  $m_2$  6 мВ. Полученные данные приведены в рис. 2–8. Масс-спектр смеси репеллентов жука *Blaps M.* представлен на рис. 1.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Eisner T., Tappey H. J., Hicks K., Robert E. S., Jerrald M. (1977) *J. Chem. Ecol.*, 3, 321–329.
2. Blum M. S., Crewe R. M., Posteels J. M. (1971) *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 64, 975–976.
3. Klinger R., Maschwitz U. (1977) *J. Chem. Ecol.*, 3, 401–410.
4. Schildknecht H., Berger D., Krauss D., Connert J., Gehlhaus J., Essenbreis H. (1976) *J. Chem. Ecol.*, 2, 1–11.
5. James R. M., Ralph O. M. (1976) *J. Chem. Ecol.*, 2, 115–130.
6. Smith D. H., Djerassi C., Maurer K. H., Rapp U. (1974) *J. Amer. Chem. Soc.*, 96, 3482–3486.
7. Разаков Р. Р., Асланов Х. А., Садыков А. С., Розынов Б. В. (1977) *Биоорган. химия*, 3, 600–605.
8. Aneshansley D. J., Eisner T., Widom J. M., Widom B. (1969) *Science*, 165, 61–62.

Поступила в редакцию

7.VIII.1979

После доработки

1.XI.1979

A STUDY OF COMPLEX MIXTURES OF NATURAL COMPOUNDS BY DEFOCUSING AND DADI METHODS. I. REPELLENTS OF DARKLING BEETLE *BLAPS M.*

RAZAKOV R. R., KASIMOV A. K., ASLANOV Kh. A., SADYKOV A. S.

*Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Uzbek SSSR, Tashkent*

In the repellent mixture of the darkling beetle *Blaps M.* the following compounds have been identified by mass spectrometry:  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, cholesterol, 2-ethylhydroquinone, 2-ethyl-1,4-benzoquinone, and *p*-methoxyphenol. The possible structures were suggested for the sterol of composition  $C_{30}H_{50}O$ .